

مقایسه روش های مختلف سنتی با روش های نوین استخراج بر فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* Bunge)

منصوره معمارزاده^{۱*}، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۲، احمد نوربخش^۳، یوسف اصلانی^۴

^۱معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۲مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۳معاونت دانشجویی و فرهنگی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۴گروه پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۰

چکیده:

زمینه و هدف: گیاه مرزه بختیاری با نام علمی *Satureja bachtiarica* Bunge ظرفیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد. نوع روش استخراج بر درصد و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس های گیاهی مؤثر است. هدف از این مطالعه، مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس های گیاه مرزه بختیاری حاصل از روش های مختلف به منظور بهینه استخراج می باشد.

روش بررسی: فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل کل اسانس های مرزه بختیاری حاصل از ۸ روش مختلف استخراج در دو قالب سنتی (تقطیر ساده، تقطیر با بخار، تقطیر با آب و بخار) و نوین (روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار) به روش DPPH و فولین سیوکالتیو تعیین شد. در این مطالعه BHT و Ascorbic acid به عنوان شاهد مثبت به کار برده شدند و داده ها در نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون های توصیفی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: نتایج آزمون های آماری اختلاف معنی داری را در میزان فنل کل و میزان IC₅₀ اسانس های حاصل از روش های مختلف استخراج نشان داد (P≥۰/۰۵). کم ترین میزان IC₅₀ (یا بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی) برابر ۱/۹۵±۰/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر مربوط به روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار با توان ۸۰۰ وات بود. در این آزمایش میزان IC₅₀ برای BHT و Ascorbic acid به ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۱۱ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

نتیجه گیری: روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار با توان ۸۰۰ وات بهترین روش استخراج اسانس از گیاه مرزه بختیاری با حفظ بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی است.

واژه های کلیدی: مرزه، استخراج، اسانس، آنتی اکسیدان، DPPH.

مقدمه:

به طور وسیعی در کوهستان های زاگرس مرکزی در ایران گسترده شده است (۲). این گونه از استان های غربی، مرکزی و جنوب غربی ایران مانند استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری می شود و در صخره های آهکی و دامنه های سنگلاخی می روید (۴،۳).

این گونه دارای برگ هایی است که در طول حالت تاخوردگی داشته و به شکل مستطیلی و خطی

جنس مرزه با نام علمی *Satureja*. L متعلق به خانواده نعنائیان Lamiaceae است و از حدود ۲۰۰ گونه گیاهی تشکیل شده است که در نواحی مدیترانه، آسیا و آمریکای شمالی گسترده شده اند (۱). ۱۴ گونه مرزه به طور خودرو در نواحی غربی و شمالی ایران می رویند. *Satureja bachtiarica* Bunge با نام محلی مرزه کوهی یک گونه گیاهی بومی است که

به صورت مجتمع در طول ساقه قرار گرفته اند، چرخه های گل دارای گل های متعدد با اندازه کوچک (حدود ۱/۵ میلی متر) هستند و با این خصلت از سایر گونه ها قابل تشخیص می باشند. برگ، گل و کاسه گل دارای غده های ترشحاتی حاوی اسانس هستند (۵). مرزه بختیاری از گیاهان دارویی سنتی و مهم ایران می باشد که از جنبه های دارویی، ادویه ای، تغذیه ای و... ارزش اقتصادی فراوانی دارد و نیز به عنوان معطر کننده در عطرسازی ها، صنایع غذایی، داروسازی و مواد آرایشی استفاده می شود (۶). عشایر بختیاری در داروهای محلی خود از مرزه بختیاری به عنوان گیاهی خلط آور، ضد عفونی کننده و ضد درد استفاده می کنند (۷)؛ همچنین اسانس مرزه بختیاری در مرحله قبل از گل دهی دارای خواص ضد باکتریایی قابل ملاحظه ای است که می توان از آن به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی بیوتیک های سنتزی که مقاومت باکتری ها به آن ها روز به روز در حال افزایش است، استفاده کرد (۹،۸). اسانس مرزه بختیاری شامل مقادیر زیادی ترکیبات فلی بوده و ظرفیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد و همچنین شامل انواع مونوترپن ها و سزکویی ترپن ها است (۱۰). فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مرزه بختیاری در حد BHT (2,6-di-tert-butyl-4-hydroxy toluene) که یک آنتی اکسیدان سنتزی است، می باشد و لذا می توان این اسانس را به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی به غذا افزود (۱۱). ترکیبات اصلی و عمده اسانس مرزه بختیاری کارواکرول ۴۴/۸٪، گاما ترپینن ۱۸/۷٪، تیمول ۱۴/۹۵٪ می باشند (۱۲).

روش های استخراج اسانس از گیاهان به دو دسته روش های سنتی و روش های نوین تقسیم می شوند. روش های سنتی: تقطیر با آب، تقطیر با بخار، تقطیر با آب و بخار و استخراج با حلال های آلی و روش های نوین شامل روش استفاده از مایکروویو، سیال فوق بحرانی، فراصوت می باشند (۱۳).

از مشکلات روش های سنتی استخراج می توان از دست دادن ترکیبات فرار، پایین بودن راندمان استخراج،

تغییر و تبدیل ترکیبات غیر اشباع و استری از طریق حرارت و هیدرولیز، همچنین سمی بودن حلال های آلی مورد استفاده را نام برد و از آنجا که ترکیبات اسانس نسبت به گرما بسیار حساس هستند و در اثر حرارت مستقیم در روش های سنتی تغییرات شیمیایی در آن ها صورت می گیرد و زمان طولانی استخراج در این روش ها سبب پلیمریزاسیون اسانس می شود (۱۶-۱۴).

روش های نوین استخراج روش هایی بدون حلال آلی، سریع با صرف میزان انرژی پایین هستند، راندمان بالا در کنار کیفیت خوب اسانس بدست آمده باعث شده است که روش های نوین استخراج مورد توجه قرار گیرند، اما دسترسی به ابزار و وسایل اسانس گیری در این روش ها به سهولت امکان پذیر نیست (۱۷، ۱۸). با توجه به اینکه ترکیبات شیمیایی گیاهان مختلف متفاوت است و نیز روش استخراج بر درصد و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس های گیاهی مؤثر است، بنابراین در یک تحقیق جدید بر روی گیاه مرزه بختیاری به عنوان گونه گیاهی دارویی، معطر و ارزشمند در استان چهارمحال و بختیاری و سایر استان های غربی و مرکزی، تصمیم گرفتیم به مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس های مرزه بختیاری حاصل از روش های مختلف سنتی و نوین استخراج در توانایی مهار رادیکال DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) پردازیم و روش بهینه استخراج با حفظ بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی را تعیین کنیم.

روش بررسی:

در یک مطالعه توصیفی - تحلیلی اسانس های گیاه مرزه بختیاری حاصل از ۸ روش مختلف سنتی و نوین استخراج از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل کل به منظور تعیین روش بهینه استخراج با یکدیگر مقایسه شدند. روش های سنتی عبارتند از: روش تقطیر ساده با کلونجر مدل فارماکوپه انگلیس، (HD_{BP}= Hydro Distillation (British Pharmacopea)) روش تقطیر با آب و بخار (SWD_{BP}= Steam and Water Distillation (British Pharmacopea)) روش تقطیر با آب

طراحی شده در مرکز تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور (HD_{RIFR}= Hydro Distillation (Research Institute of Forests and Rangelands)) روش نوآورانه تقطیر با بخار (SD_{imove}= Steam Distillation (innovative)) و روش های نوین عبارتند از: روش دیگر، روش نفوذ آب به کمک مایکروویو با توان ۴۰۰ وات (MHD_{400w}= Microwave Hydro Diffusion with power 400 watt)، روش نفوذ آب به کمک مایکروویو با توان ۸۰۰ وات، (MHD_{800w}= Microwave Hydro Diffusion with power 800 watt) روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار با توان ۴۰۰ وات (MSHD_{400w}= Microwave steam Hydro Diffusion with power 400 watt)، روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار با توان ۸۰۰ وات. (MSHD_{800w}= Microwave Steam Hydro Diffusion with power 800 watt) اسانس گیری بر روی ۱۰۰ گرم گیاه مرزه بختیاری خشک در یک لیتر آب مقطر تا زمانی که دیگر بر حجم و وزن اسانس افزوده نشد، ادامه یافت که این زمان در روش های سنتی ۳/۵ ساعت و در روش های نوین ۳۰ دقیقه به طول انجامید و سپس اسانس های حاصل توسط سولفات سدیم خشک آبدگیری شدند و در ویال های شیشه ای تیره در یخچال ۴ درجه سلسیوس تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

در اواخر بهار ۱۳۹۳ اقدام به برداشت و جمع آوری اندام هوایی گیاه مرزه بختیاری از دامنه های شیب دار ارتفاعات استان چهارمحال و بختیاری تا ۵ سانتی متر بالاتر از سطح زمین گردید و بلافاصله بعد از شناسایی و تأیید شماره ی هرباریومی آن (NO.CHB-۳۶۲۱) در مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، گیاه در شرایط سایه (دمای ۲۰±۵ درجه سلسیوس) با تهویه مناسب به مدت ۵ روز خشک شد و سپس در ظروف شیشه ای تیره در یخچال ۴ درجه سلسیوس تا زمان آزمایش قرار داده شد؛ محلول فولین سیو کالتیو ۱۰٪؛ محلول کربنات سدیم ۲٪؛ محلول DPPH= 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl در متانول

با غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر؛ تهیه غلظت های ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از اسانس ها. اساس این روش در توانایی مهار کردن رادیکال DPPH توسط اسانس های حاصل از روش های مختلف استخراج استوار است، هر اسانس که میزان IC₅₀ آن کم تر باشد، قدرت آنتی اکسیدانی بیش تری دارد؛ همچنین هر چه درصد مهار رادیکال DPPH بیش تر باشد، قدرت آنتی اکسیدانی بیش تر است.

میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف هر اسانس به ۳/۹ میلی لیتر از محلول DPPH در لوله آزمایش اضافه شد و پس از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و سپس جذب شاهد و نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis قرائت گردید (۲۱-۱۹).

برای مقایسه ی اسانس ها از نظر قدرت آنتی اکسیدانی از IC₅₀ استفاده شد، بدین منظور ابتدا درصد مهار DPPH توسط رابطه ی زیر محاسبه شد و نمودار آن در مقابل غلظت اسانس رسم گردید و IC₅₀ که همان غلظتی از اسانس است که باعث مهار ۵۰٪ رادیکال DPPH می شود، محاسبه شد.

$$\text{DPPH درصد مهار} = \left[1 - \frac{A_A}{A_B} \right] \times 100$$

در این رابطه: A_A = جذب نمونه، A_B = جذب شاهد می باشد (۲۲، ۲۳).

به ۵ میلی لیتر از محلول فولین سیو کالتیو ۱۰٪ میزان ۵۰۰ میکرولیتر از محلول اسانس (با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) اضافه شد و پس از ۵ دقیقه بهم زدن مقدار ۳ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۲٪ اضافه و یک دقیقه به هم زده شد، پس از یک ساعت در دمای آزمایشگاه محلول آبی رنگی تشکیل گردید که جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.

گالیک اسید که تمامی مراحل بالا بر روی آن انجام شد، به عنوان استاندارد در این روش به کار برده شد (نمودار شماره ۱).

BHT و Ascorbic acid به طور جداگانه به عنوان شاهد مثبت به کار برده شدند (۲۵،۲۴). کلیه مراحل آزمایش با ۳ تکرار انجام گرفت و تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار (SPSS) و آزمون های آماری توصیفی در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

یافته ها:

آزمون های آماری نشان داد که بین میزان IC_{50} اسانس حاصل از روش های مختلف استخراج اختلاف معنی دار وجود دارد ($P \leq 0/05$). کم ترین میزان IC_{50}

(یا بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی) برابر $1/95 \pm 0/13$ میلی گرم بر میلی لیتر مربوط به روش (MSHD_{800w}) بود و بیش ترین میزان IC_{50} (یا کم ترین فعالیت آنتی اکسیدانی) برابر $4/34 \pm 0/18$ میلی گرم در میلی لیتر مربوط به روش (SD_{innove}) بود. (BHT= 2,6-di-tert-butyle-4-hydroxy toluene) دارای میزان IC_{50} برابر $0/13$ و Ascorbic acid دارای میزان IC_{50} برابر $0/11$ میلی گرم بر میلی لیتر بودند و همچنین کارواکرول (Carvacrol) یکی از ترکیبات عمده موجود در اسانس مرزه بختیاری می باشد. دارای میزان IC_{50} برابر $2/73 \pm 0/08$ میلی گرم بر میلی لیتر متانول بود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی (روش DPPH) اسانس بر اساس روش های مختلف استخراج

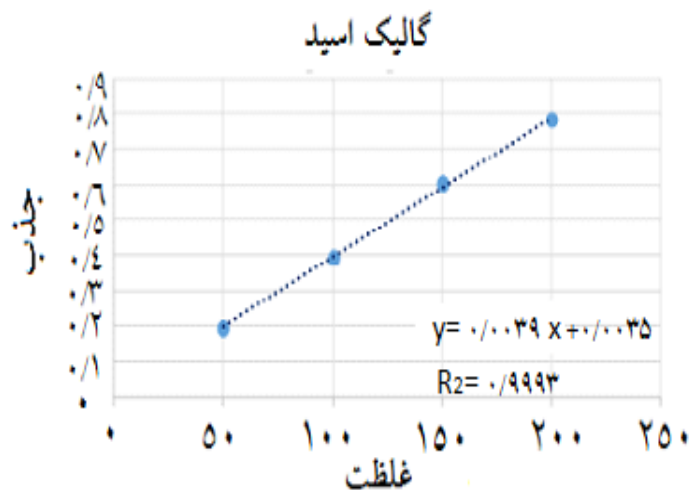
روش های مختلف استخراج	علائم اختصاری	میزان فنل کل	DPPH
* ۱	روش تقطیر ساده	۲۴۹/۵۲±۳/۶۴c	IC_{50} (میلی گرم بر میلی لیتر)
۲	روش تقطیر با آب و بخار	۲۵۸/۳۷±۹/۱۳c	
۳	روش تقطیر با بخار (نوآورانه)	۲۰۵/۹۱±۲/۵۵f	
۴	روش تقطیر با آب (طرح مؤسسه جنگل ها و مراتع کشور)	۲۵۵/۱۲±۵/۱۰c	
۵	روش نفوذ آب به کمک مایکروویو با توان ۴۰۰ وات	۲۵۵/۱۲±۵/۱۰c	
۶	روش نفوذ آب به کمک مایکروویو با توان ۸۰۰ وات	۲۲۹/۳۵±۵/۲۷d	
۷	روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار با توان ۴۰۰ وات	۲۲۶/۶۷±۲/۹۹de	
۸	روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار با توان ۸۰۰ وات	۲۶۸/۲۲±۶/۳۴b	
۹	۲ و ۶- دی ترسیو بوتیل-۴-هیدروکسی تولوئن	۳۲۷/۷۲±۲/۳۰a	
۱۰	آسکوربیک اسید	۳۹۲/۲۷±۳/۹۱a	
۱۱	کارواکرول	۲۵۹/۰۴±۰/۵۷c	
۱۲	آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA)	$P \leq 0/05$	$P \leq 0/05$

*: حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن است ($P < 0/05$).

کم ترین میزان فنل کل برابر $205/91 \pm 2/55$ میلی گرم گالیک اسید در گرم اسانس مربوط به روش (SD_{innove}) بود. BHT دارای میزان فنل کل برابر $327/72 \pm 2/30$ و Ascorbic acid دارای میزان فنل کل برابر $392/27 \pm 3/91$ میلی گرم گالیک اسید در گرم اسانس

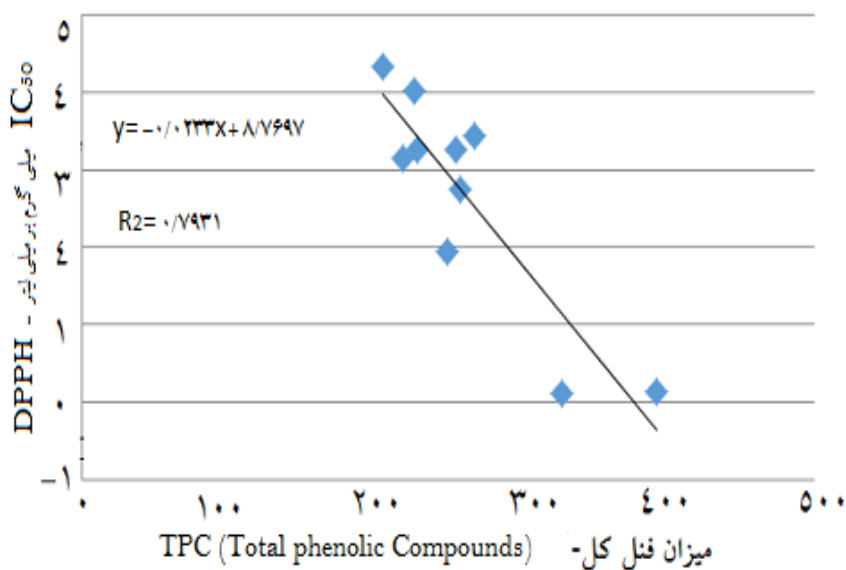
همچنین نتایج آزمون های آماری اختلاف معنی داری را در میزان فنل کل در اسانس حاصل از روش های مختلف استخراج نشان داد ($P \leq 0/05$). بیش ترین میزان فنل کل برابر $268/22 \pm 6/34$ میلی گرم گالیک اسید در گرم اسانس مربوط به روش (MSHD_{800w}) بود و

بود و همچنین میزان فنل کل کارواکرول (Carvacrol) بختیاری است، برابر $387/04 \pm 0/57$ میلی گرم گالیک که یکی از ترکیبات عمده موجود در اسانس مرزه اسید بر گرم بود (جدول شماره ۱).



نمودار شماره ۱: جذب بر حسب غلظت گالیک اسید در طول موج ۷۶۰ نانومتر

بر اساس (نمودار شماره ۲) هر چه میزان ترکیبات فنلی کل در اسانس حاصل از روش های مختلف استخراج بیش تر باشد، میزان IC_{50} یا به عبارتی آن غلظتی از اسانس که باعث مهار ۵۰٪ رادیکال های DPPH می شود، کاهش می یابد و خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد.



نمودار شماره ۲: میزان IC_{50} میلی گرم بر میلی لیتر بر حسب میزان فنل کل در روش های مختلف استخراج

بحث:

در این تحقیق مقایسه روش های سنتی و نوین اسانس گیری نشان داد، اسانس حاصل از روش نفوذ آب به کمک مایکروویو و بخار با توان ۸۰۰ وات شامل بیش ترین میزان فنل کل و بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی است. در حالی که اسانس حاصل از روش تقطیر با بخار کم ترین میزان فنل و پایین ترین خاصیت آنتی اکسیدانی را داشته است که ممکن است در روش تقطیر با بخار به دلیل تنش های گرمایی و حرارت زیاد ترکیبات فنلی دستخوش تغییر و تبدیل شده، ضمناً زمان طولانی استخراج سبب پلیمریزاسیون اسانس می شود و خاصیت آنتی اکسیدانی کاهش می یابد، در حالی که در روش نوین استفاده از مایکروویو سرعت انتقال حرارت در ترکیبات قطبی و زمان کوتاه استخراج ۳۰ دقیقه در مقابل ۳/۵ ساعت در روش های سنتی باعث کاهش تجزیه ترکیبات اکسیژنه اصلی مثل تیمول و کارواکرول به ترکیبات جزئی در اثر حرارت و هیدرولیز شده است.

وثوقی و همکاران به تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس حاصل از تقطیر ساده اندام هوایی مرزه بختیاری به روش DPPH پرداختند، به این نتیجه رسیدند که این اسانس دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی است و می تواند به عنوان نگه دارنده به مواد غذایی افزوده شود که نتیجه این تحقیق با تحقیق حاضر مطابقت دارد (۲۶).

نتایج پژوهش شیرعلی و همکاران از استان فارس بر روی اسانس حاصل از تقطیر با آب گیاه مرزه بختیاری به روش DPPH نشان داد که میزان IC_{50} برابر ۹/۴۶ میکروگرم در میلی لیتر و میزان فنل کل برابر ۲۱/۲۵ میلی گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک بود. با توجه به وجود ترکیبات فنلی مانند کارواکرول و تیمول که تشکیل دهنده عمده اسانس مرزه بختیاری می باشند به نظر می رسد که این ترکیبات باعث ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی در گیاه می شوند و این

خاصیت باعث جلوگیری از اکسیده شدن لیپیدها و بیماری های کرر قلب و سرطان می شود و لذا می توان از آن به عنوان جایگزینی مناسب برای داروهای صنعتی استفاده کرد (۲۷). نتایج این تحقیق از نظر وجود خاصیت آنتی اکسیدانی با تحقیق حاضر مطابق است، ولی بر اساس تحقیق سفیدکن و همکاران تغییرات شرایط اکولوژیک از جمله ارتفاع از سطح دریا، دما، خاک، رطوبت و اقلیم و ... می تواند بر خاصیت آنتی اکسیدانی تأثیر داشته است (۲۸).

Cavar و همکاران از گونه دیگری از گیاه مرزه *S. subspicata* Bart به روش تقطیر ساده اسانس گیری کردند، میزان IC_{50} به ترتیب در فصل تابستان و پاییز برابر ۱۵/۶ و ۲۱ میلی گرم بر میلی لیتر بود، نتایج نشان داد که این گونه از مرزه میزان خاصیت آنتی اکسیدانی پایین تری نسبت به مرزه بختیاری دارد و گونه های مختلف از خانواده نعنائیان پروفایل شیمیایی متفاوتی دارند و در فصل سرما ممکن از متابولیت های ثانویه گیاه در جهت افزایش تولید ترکیبات فنلی باشد (۲۹).

طبق پژوهش فتحی و همکاران میزان فنل کل در اسانس مرزه *S. hortensis* L برابر ۲۹۳/۷ میلی گرم گالیک اسید بر میلی لیتر اسانس گزارش شد (۳۰).

Oke و همکاران بر روی *S. cuneifolia* Ten که در سایه خشک شده بود، به روش تقطیر با بخار عمل استخراج انجام دادند و میزان فنل کل در اسانس حاصل برابر ۱۸۵/۵ میلی گرم گالیک اسید بر گرم بود که همانند تحقیق حاضر در روش تقطیر با بخار به دلیل دمای بالایی که بخار دارد، ترکیبات فنلی دستخوش تغییر و تبدیل شده و کاهش می یابند (۲۴).

نتیجه گیری:

مقایسه اسانس های گیاه مرزه بختیاری حاصل از ۸ روش مختلف استخراج در دو قالب روش های سنتی و نوین از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که روش نفوذ

تشکر و قدردانی:

از ریاست محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و مسئول محترم مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و معطر و کلیه بزرگوارانی که در انجام این تحقیق که برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته شیمی با کد ۱۷۲۳۰۳۲۴۹۲۱۰۰۱ می باشد، کمال همکاری و مساعدت داشتند، تشکر و قدردانی می شود.

آب به کمک مایکروویو و بخاربا توان ۸۰۰ وات بهترین روش استخراج اسانس از گیاه مرزه بختیاری با حفظ بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی است. کم ترین خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به روش تقطیر با بخار بود و لذا انتخاب روش استخراج از اهمیت خاصی برخوردار بوده و روش های نوین در مقایسه با روش های سنتی استخراج خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس را بیش تر حفظ می کنند.

منابع:

1. Cantino PD, Harley RM, Wagstaff SJ. Genera of Labiatae: Status and classification. In: Harley RM, Reynolds T. Advances in Labiatae Science. United Kingdom: Royal Botanic Gardens Kew; 1992: 511-22.
2. Jamzad Z. A new species of the genus *Satureja* (Labiatae) from Iran. Iran J Bot. 1994; 6(2): 215-8.
3. Sefidkon F, Jamzad Z. Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). Food Chem. 2005; 91(1): 1-4.
4. Pirbalouti AG, Oraie M, Pouriamehr M, Babadi ES. Effects of drying methods on qualitative and quantitative of the essential oil of *Bakhtiari* savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.). J Ind Crop Prod. 2013; 46: 324-7.
5. Ghahraman A. Color Florine. Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran; 2000.
6. RM, Valverde S. Secondary metabolites from *Satureja* species. New triterpenoid from *Satureja acinos*. J Nat Prod. 1985; 48(1): 128-31.
7. Pirbalouti A. Medicinal plants used in Chaharmahal and Bakhtyari districts of Iran. Herba Pol. 2009; 55(2): 69-77.
8. Ahanjan M, Ghaffari J, Nasolahie M, Mirabi A, Mohammadpour G. Antibacterial potential of essential oil of medical plant *Satureja bachtiarica* Bunge against human pathogenic bacteria. J Planta Med. 2011; 77(12): PM1.
9. Sefidkon F, Sadeghzadeh L, Teimoori M, Asgary F. Survy on antibacterial effects from *Satureja bachtiarica* Bunge and *Satureja khuzestanica* Jamzadin two harvesting Phase. J Med Aromat Plant Res. 2008; 23(2): 174-82.
10. Sefidkon F, Jamzad Z. Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge. J Essent oil Res. 2000; 12(5): 545-6.
11. Hashemi MB, Niakousari M, Saharkhiz MJ. Antioxidant activity of *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil in rapeseed oil irradiated with UV rays. Eur J Lipid Sci Technol. 2011; 113(9): 1132-7.
12. Babadi ES, Ghasemi Pirbalouti A, Nourafcan H, Hamed B. Bioactivity of essential oil of *bakhtiari* savory (Lamiaceae). Electr J Biol. 2012; 8(4): 73-8.
13. Meshkatsadat M, Rabiei K, Shabaninejad Y. Chemical characterization of volatile oils of different parts of *Satureja bachtarica* Bunge. J Adv Chem. 2013; 5(2): 678-84.
14. Golmakani MT, Rezaei K. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Food Chem. 2008; 109(4): 925-30.
15. Vinatoru M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrason Sonochem. 2001; 8(3): 303-313.
16. Gupta D, Shah M, Shrivastav P. Microwave-Assisted Extraction of *Eucalyptus Citriodora* Oil and Comparison with Conventional Hydro Distillation. Middle-East. J Sci Res. 2013; 16(5): 702-5.
17. Paré J, Bélanger J. Instrumental Methods in Food Analysis. Elsevier, Amsterdam; 1997.
18. Tigrine-Kordjani N, Meklati B, Chemat F. Microwave 'dry' distillation as a useful tool for extraction of edible essential oils. Int J Aromat. 2006; 16(3): 141-7.

19. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nat J. 1958; 181: 1199-200.
20. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy research: PTR. 2000; 14(5): 323-8.
21. Xu J, Chen S, Hu Q. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.). Food Chem. 2005; 91(1): 79-83.
22. Wootton-Beard PC, Moran A, Ryan L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. Food Res Int. 2011; 44(1): 217-24.
23. Singleton V, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 1965; 16(3): 144-58.
24. Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chem. 2009; 112(4): 874-9.
25. Sefidkon F, Jamzad Z. Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge. J Essent oil Res. 2000; 12(5): 545-6.
26. Vosughi N, Ghasemi pirbalouti A, Shirmardi H. Phytochemical analysis and antioxidant activity from *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil were collected from the area Sabzkouh (Bakhtiari Zagros). National Conference of Medicinal Plants, Shahrekord; 2014.
27. Shirali R, Samani Babadi R, Extraction and survey on phenolic compounds and antioxidant activity from *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil in Fars province. National Conference of Medicinal Plants; Shahrekord; 2014.
28. Sefidkon F, Sadeghzadeh L, Teimoori M, Asgary F. Survy on antibacterial effects from *Satureja bachtiarica* Bunge and *Satureja khuzestanica* Jamzadin two harvesting Phase . J Med Aromat Plant Res. 2008; 23(2):174-82.
29. Cavar S, Maksimovic M, EditaSolic M, Jerkovic-Mujkic A, Besta R. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. Food Chem. 2008; 111: 648-53.
30. Fathi A, Sahari MA, BarzegarM, NaghdiBadi H. Antioxidant activity of *Satureja hortensis* L. essential oil and its application in safflower oil. J Med Plant. 2013; 12(45): 51-67.

Compare antioxidant activity from *Satureja bachtiarica* Bunge essential oils under different extraction methods (Conventional and innovative techniques)

Memarzadeh M^{1*}, Ghasemi Pirbalouti A², Nourbakhsh A³, Aslani U⁴

¹Food and Drug Deputy, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran;

²Research Center for Medicinal Plants and Ethno Veterinary, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, I.R. Iran; ³Student and Cultural Deputy, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; ⁴Nursing Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 11/Jan/2016 Accepted: 30/Jan/2016

Background and aims: Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.) has a high anti-oxidant ability. Kinds of extraction methods are effective on the kind and percent of existence chemical compounds in herbal essences. The aim of this study was to compare antioxidant activities from *Satureja bachtiarica* Bunge essential oils extracted from different extraction methods to determine the extraction optimization.

Methods: Antioxidant activities and the rate of phenol in the essential oils of Bakhtiari savory was extracted by eight different methods in two models, Conventional hydrodistillation (single distillation, distillation with steam, and distillation with water and steam), and innovative techniques (water penetration method by microwave-assisted and microwave-assisted with water) in DPPH and in DPPH and Folin ciu Calteu method. In this study, BHT and Ascorbic acid were applied as positive control. Data were analyzed using analytic statistical tests and SPSS software.

Results: The statistical tests results showed a significant difference in phenol content, and IC₅₀ of obtained essences in different extraction methods (P<0.05). The lowest rate of IC₅₀ was 1.95±0.13 mg/ml for water penetration by microwave and steam with 800 Watt. In this experiment, IC₅₀ for BHT and Ascorbic acid was 0.13, and 0.11, respectively.

Conclusion: The steam and microwave– assisted extraction techniques were the best extraction methods with high protective antioxidant activity.

Key words: *Satureja*, Extraction, Essential oil, DPPH, Antioxidant.

Cite this article as: Memarzadeh M, Ghasemi pirbalouti A, Nourbakhsh A, Aslani U. Compare antioxidant activity from *Satureja bachtiarica* Bunge essential oils under different extraction methods (Conventional and innovative techniques). J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 17(Suppl): 107-115.

***Corresponding author:**

Food and Drug Deputy, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran
Tel: 00989131830813, E-mail: memarzadeh8291@gmail.com